

### 3. ERGEBNISSE

Aus 25 während Hysterektomie entnommenen Biopsaten wurden 146 Myometriumstreifen exzidiert. 23 Streifen wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

Wie der Tabelle 1 zu entnehmen ist, handelt es sich um 37-54 jährige Probandinnen, die in 21 Fällen wegen Uterus myomatosus und in 4 Fällen wegen Blutungsstörungen jeglicher Art operiert wurden. Insgesamt wurden 305 Messungen an den Myometriumstreifen durchgeführt, davon 83 Messungen mit Atosiban in 4 unterschiedlichen Konzentrationen, 83 Messungen mit Glyceroltrinitrat (ebenfalls in 4 verschiedenen Konzentrationen) und 99 Messungen mit 5 verschiedenen Nifedipinkonzentrationen. An 10 Präparaten von 5 verschiedenen Patientinnen wurden 40 Kontrollmessungen ohne Substanzapplikation vorgenommen (siehe Tabelle 3).

Substanz	Messungen
Atosiban	83
GTN	83
Nifedipin	99
Kontrollen	40
<b>Gesamt</b>	<b>305</b>

*Tabelle 3: Anzahl der Messungen*

Insgesamt wurden von 146 Streifen 84,2% (entspricht 123 Myometriumstreifen) in die Versuche eingeschlossen, da sie nach einem durchschnittlichen Zeitraum von 40 min. ausreichend hohe und regelmäßige Spontankontraktionen zeigten.

Von den 23 Myometriumstreifen, die wegen fehlenden Spontankontraktionen von den Versuchen ausgeschlossen wurden, stammten 82,6% (19 Streifen) interessanterweise aus Biopsaten von jüngeren Probandinnen (Alter 37-45 Jahre), nur 17,4% (4 Streifen) dagegen aus der älteren Gruppe (Alter 46-54 Jahre). Zeigte ein Myometriumstreifen die ersten 2 Stunden keine Spontankontraktionen, so blieben diese regelmäßig bis zum Versuchsende aus. Auffällig war außerdem, dass die Myometriumpreparate aus der älteren Patientinnengruppe eine zweifach erhöhte Kontraktilität im Vergleich zu den Präparaten aus der jüngeren Altersgruppe (siehe oben) aufwiesen (bezogen auf die Fläche unter der Kurve, das Integral der Spontanaktivität vor Medikamentenzugabe).

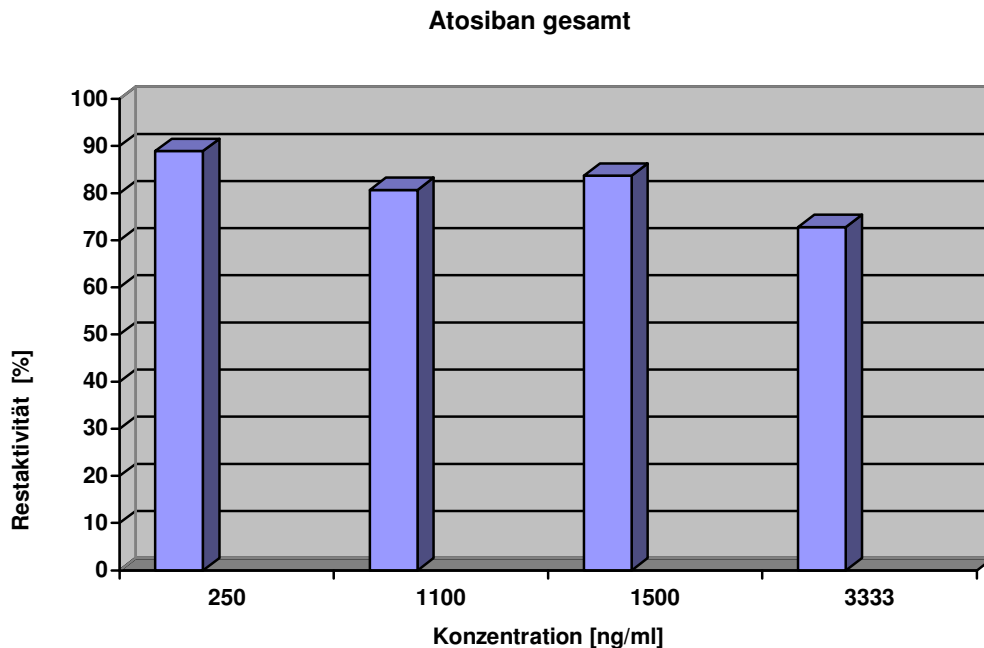
### 3.1 Versuche mit Atosiban

Insgesamt konnte durch Atosiban eine geringe Abnahme der Restaktivität der Spontan-  
kontraktionen am nicht-schwangeren Myometrium verzeichnet werden (siehe Abbildung 5  
und Tabelle 4).

Die verwendeten Atosibankonzentrationen lagen zwischen 250 ng/ml und 3333 ng/ml. In der  
niedrigsten verwendeten Konzentration (250 ng/ml) betrug die mediane Restaktivität 88,9%  
im Vergleich zu der Ausgangsaktivität, was einer Hemmung von 11,1% entspricht.

In der höchsten Atosibankonzentration (3333 ng/ml) wurde eine mediane Restaktivität von  
72,8% gemessen, dies entspricht einer Hemmung von 27,2% .

Bei Substanzkonzentrationen von 1100 bzw. 1500 ng/ml betrug die Restaktivität 80,7% bzw.  
83,7%.



*Abbildung 5: Graphische Darstellung der durch Atosiban erzielten Restaktivitäten in % des Ausgangswertes, Mediane*

<b>Atosiban-Konzentration [ng/ml]</b>	<b>Restaktivität [%]</b>	<b>Anzahl der Messungen</b>
<b>250</b>	<b>88,9 (62,3- 106,2)</b>	<b>20</b>
<b>1100</b>	<b>80,7 (68,1- 88,7)</b>	<b>21</b>
<b>1500</b>	<b>83,7 (65,9- 104,5)</b>	<b>21</b>
<b>3333</b>	<b>72,8 (44,5- 94,5)</b>	<b>21</b>

**Tabelle 4: Restaktivitäten nach Zugabe von Atosiban in % des Ausgangswertes, Mediane (25.-75. Perzentile)**

### 3.1.1 Messung nach wiederholter Applikation von Atosiban

Betrachtet man die Wirkung von Atosiban nach wiederholter Substanzapplikation, ist die Restaktivität in allen Konzentrationen am niedrigsten nach der zweiten Applikation (siehe Tabelle 5).

Der Unterschied der Restaktivitäten der ersten und zweiten Messung ist jedoch nur geringfügig und statistisch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

Atosiban hat bei der ersten Applikation in der geringsten Konzentration (250 ng/ml) die schwächste Relaxationswirkung (8,5%), die stärkste Hemmwirkung mit 54,6% wurde nach der zweiten Applikation in der höchsten Konzentration (3333 ng/ml) verzeichnet.

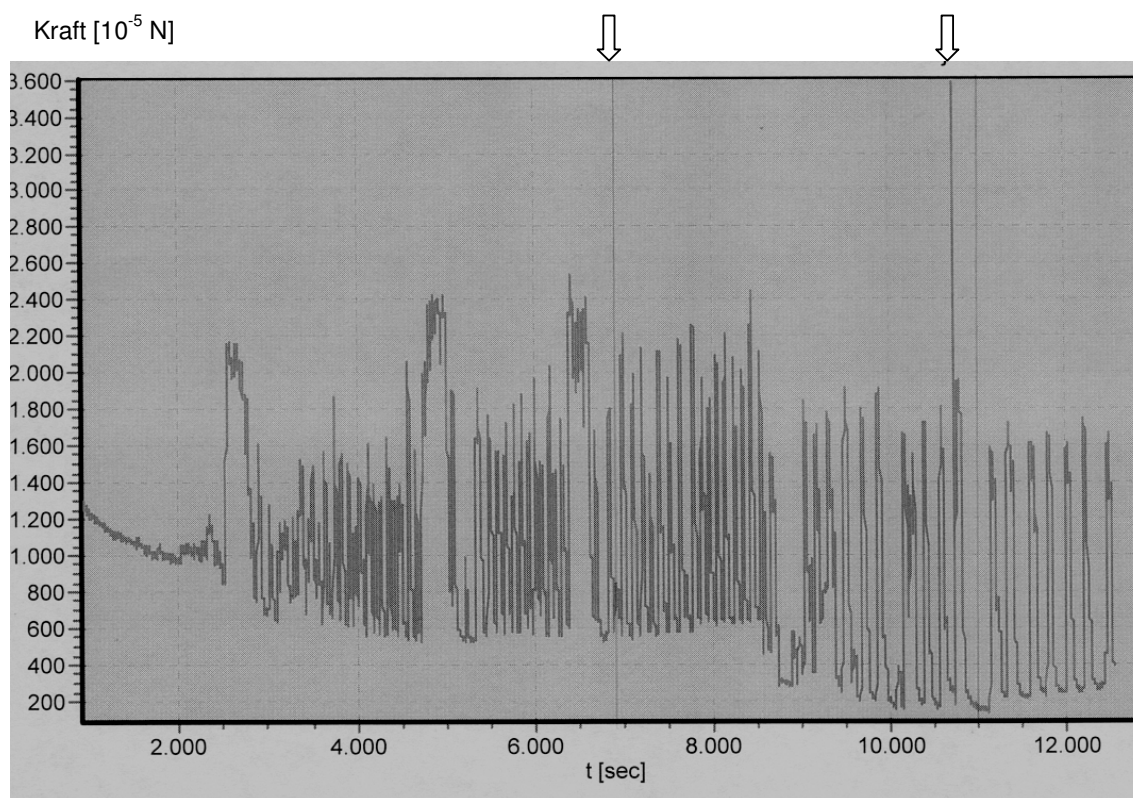
Bei der dritten und vierten Atosibanapplikation handelt es sich nur um 10 bzw. um 5 Messwerte, so dass diese Zahlen mit Vorsicht betrachtet werden müssen und nicht so aussagekräftig sind wie die Zahlen der ersten und zweiten Messung.

<b>Atosiban-Konzentration [ng/ml]</b>	<b>1. Messung</b>	<b>2. Messung</b>	<b>3. Messung</b>	<b>4. Messung</b>
<b>250</b>	<b>91,5 (19)</b>	<b>77,1 ( 1)</b>	-----	-----
<b>1100</b>	<b>86,7 ( 5)</b>	<b>79,3 (14)</b>	<b>80,4 ( 2)</b>	-----
<b>1500</b>	<b>86,5 ( 8)</b>	<b>82,4 ( 7)</b>	<b>84,6 ( 5)</b>	<b>57,8 ( 1)</b>
<b>3333</b>	<b>89,1 ( 4)</b>	<b>45,4 (10)</b>	<b>87,6 ( 3)</b>	<b>88,5 ( 4)</b>

**Tabelle 5: Konzentrationsabhängige Restaktivitäten nach wiederholter Atosibanzugabe, Mediane (Anzahl der Messungen)**

### 3.1.2 Darstellung einzelner Kontraktionskurven bei Applikation von Atosiban

Die Abbildungen 6 und 7 zeigen beispielhafte Kurvenverläufe bei Applikation von Atosiban. Bei dem Versuch aus Abbildung 6 wurde Atosiban in den beiden niedrigsten Konzentrationen hinzugefügt. Hierbei war zu beobachten, dass die Grundspannung während des Versuchs von 1300 auf  $300 \times 10^{-5}$  N bei Versuchsende abfiel. Die Kontraktionsfrequenz nahm von 8 Kontraktionen/ 15 min während der 1. Messphase auf 4 Kontraktionen / 15 min in der 2. Messphase ab. Die AUC fiel nach der ersten Applikation bei  $t = 6815$  von 611.911 auf 381.183, was einer Restaktivität von 62,3% entspricht. Nach der zweiten Applikation fiel die AUC von 475.242 auf 401.320, was einer Restaktivität von 84,4% entspricht. Vergleicht man diese Werte mit den medianen Restaktivitäten (siehe Tabelle 4), so ist die in diesem Beispiel gemessene Restaktivität von 62,3% bei einer Organbadkonzentration an Atosiban von 250 ng/ml sehr viel niedriger (mediane Restaktivität in dieser Konzentration: 88,9%). Atosiban hatte hier also eine bessere Relaxationswirkung als im Durchschnitt. Die nach der zweiten Applikation gemessene Restaktivität von 84,4% ist eher repräsentativ für die meisten Versuche (siehe Tabelle 4: mediane Restaktivität bei 1100 ng/ml Atosiban 80,7%).

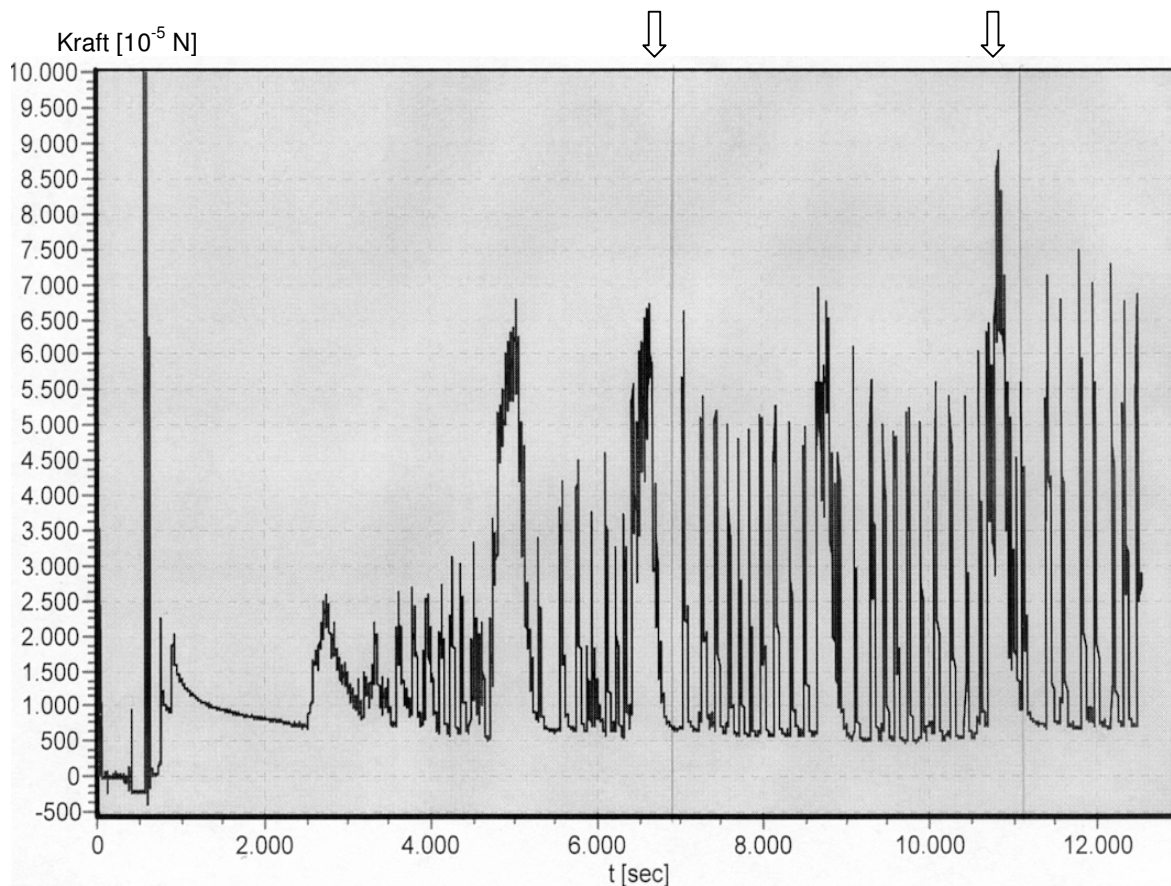


**Abbildung 6: Kurvenverlauf bei Applikation von Atosiban in einer Konzentration im Organbad von 250 ng/ml bei 6815 s und 1100 ng/ml bei 11.000 s.**

Die Pfeile oben im Bild markieren den Zeitpunkt der Substanzzugabe.

Abbildung 7 zeigt den Kurvenverlauf von einem Versuch, bei dem Atosiban in den beiden höchsten Konzentrationen appliziert wurde. Hier nahm die AUC in der ersten Messphase von 1621680 auf 614034 ab, was einer Restaktivität von 37,9% entspricht. In der zweiten Messphase sank die Restaktivität auf 42,9%. Die Kontraktionsfrequenz blieb während der Versuchszeit in diesem Beispiel eher stabil zwischen 4-5 Kontraktionen pro 15 min. Auch die Baseline war hier stabil bei  $500 \times 10^{-5}$  N. Auch in diesem Beispiel hatte Atosiban eine überdurchschnittlich gute Relaxationswirkung.

Vergleicht man die Werte mit den medianen Restaktivitäten (siehe Tabelle 4), so steht in diesem Beispiel 37,9% gegenüber 83,7% und 42,9% gegenüber 72,8%.



**Abbildung 7:** Kurvenverlauf nach Applikation von Atosiban in einer Konzentration im Organbad von 1500 ng/ml bei  $t= 6900$  s und 3333 ng/ml bei  $t= 11060$  s

### 3.2 Versuche mit Glyceroltrinitrat

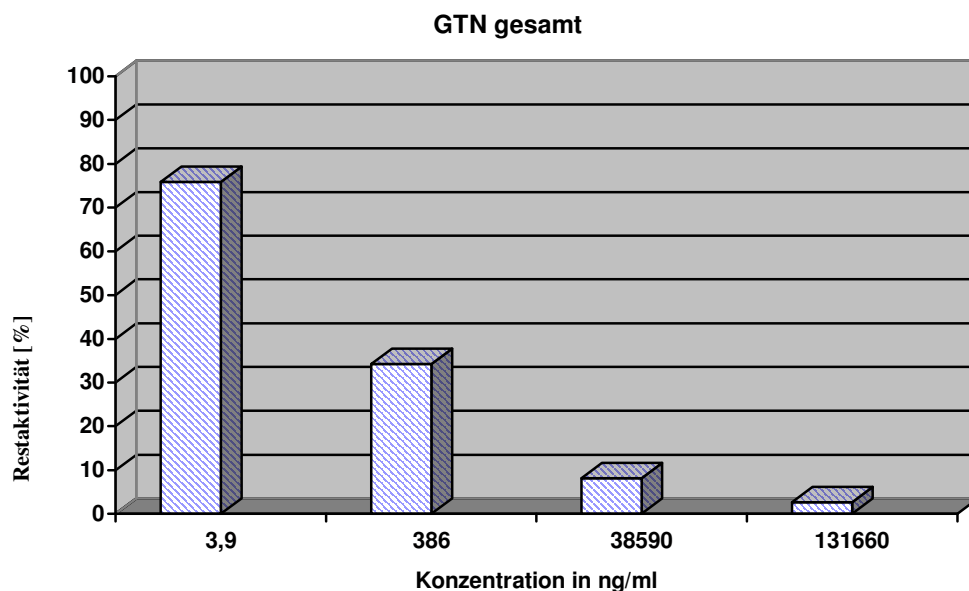
Insgesamt konnte durch Glyceroltrinitrat eine starke Relaxationswirkung auf die Spontan-  
kontraktionen des nicht-schwangeren Myometriums erzielt werden. Bei den Versuchen  
wurden GTN-Konzentrationen zwischen 3,9 und 131660 ng/ml verwendet.

In der niedrigsten verwendeten Konzentration (3.9 ng/ml) betrug die mediane Restaktivität  
75,8% im Vergleich zu der Ausgangsaktivität, was einer Hemmung von 24,2% entspricht.  
In der höchsten Konzentration (131660 ng/ml) wurde eine mediane Restaktivität von 2,6%  
gemessen, dies entspricht einer Hemmung von 97,4% .

Bei einer GTN-Konzentration von 386 ng/ml konnte eine Restaktivität von 34,3 % erreicht  
werden, bei 38590 ng/ml 8,1%. Damit ist der Relaxationseffekt von GTN auf Spontan-  
kontraktionen ebenfalls konzentrationsabhängig, zudem ist er stärker im Vergleich zur  
maximal erreichbaren Atosibanwirkung (wobei bei GTN auch die Variationsbreiten in den  
verwendeten Konzentrationen viel größer war).

Geht man von der therapeutischen Plasmakonzentration aus, die bei GTN zwischen 0,1 bis 5  
ng/ml liegt, wird in diesem Bereich in den in vitro-Versuchen eine Relaxation von etwa 25%  
erzielt.

Die durch GTN gemessenen Restaktivitäten werden in Abbildung 8 und Tabelle 6 dargestellt.



**Abbildung 8:** Graphische Darstellung der durch GTN erzielten Restaktivitäten in % des Ausgangswertes, Mediane

<b>GTN-Konzentration [ng/ml]</b>	<b>Restaktivität [%]</b>	<b>Anzahl der Messungen</b>
<b>3,9</b>	<b>75,8 (55,9- 96,9)</b>	<b>21</b>
<b>386</b>	<b>34,3 (14,4- 68,8)</b>	<b>20</b>
<b>38590</b>	<b>8,1 (2,9- 25,0)</b>	<b>20</b>
<b>131660</b>	<b>2,6 (0,4- 8,5)</b>	<b>22</b>

**Tabelle 6: Restaktivitäten nach Zugabe von GTN in % des Ausgangswertes, Mediane (25.-75. Perzentile)**

### 3.2.1 Messungen mit GTN nach wiederholter Substanzapplikation

Bei der Betrachtung der gemessenen medianen Restaktivitäten nach wiederholter-GTN-Applikation in Tabelle 7 fällt zunächst auf, dass eine vierte Messung bzw. Substanzapplikation hier in keinem Fall und eine dritte Messung in nur 7 Fällen möglich war. Die durch GTN-Zugabe erzielte Relaxation der Myometriumbstreifen war meist bereits nach einer, spätestens nach zwei Applikationen so effektiv, dass nicht mehr ausreichend Spontanaktivität vorhanden war, um eine dritte oder vierte Messung durchführen zu können.

In den unterschiedlichen GTN-Konzentrationen lassen sich zwischen der ersten und zweiten Substanzapplikation keine signifikanten Unterschiede in den gemessenen medianen Restaktivitäten feststellen. In der niedrigsten Konzentration wurden nur drei Zweitmessungen durchgeführt, diese lagen mit einer medianen Restaktivität von 85,1% höher als in der ersten Messung mit einer Restaktivität von 73,9%, hier hat GTN somit in der zweiten Messung eine schlechtere Relaxationswirkung gezeigt. An dieser Stelle kann man jedoch nicht von einer Nitrattoleranz sprechen, da es sich lediglich um drei Messwerte handelt und in allen anderen Konzentrationen bei der zweiten Messung sogar niedrigere Restaktivitäten gemessen wurden als während der ersten. GTN hatte in den meisten Fällen bei der zweiten Substanzapplikation somit eine bessere Relaxationswirkung.

<b>GTN- Konzentration [ng/ml]</b>	<b>1. Messung</b>	<b>2. Messung</b>	<b>3. Messung</b>
<b>3,9</b>	<b>73,9 (18)</b>	<b>85,1 ( 3)</b>	-----
<b>386</b>	<b>55,8 ( 5)</b>	<b>37,5 (13)</b>	<b>15,3 ( 2)</b>
<b>38.590</b>	<b>10,6 (11)</b>	<b>4,9 ( 8)</b>	-----
<b>131.660</b>	<b>2,8 ( 4)</b>	<b>2,2 (13)</b>	<b>2,9 ( 5)</b>

**Tabelle 7: Konzentrationsabhängige Restaktivitäten nach wiederholter GTN-Applikation, Mediane (Anzahl der Messungen)**

Bei den Messwerten zu GTN ist grundsätzlich anzumerken, dass das angewandte Pharmakon Trinitrosan® 77,0 Vol.-% Alkohol enthält. Um dies zu veranschaulichen, sind rein rechnerisch in den Organbädern folgende Alkoholkonzentrationen entstanden:

bei einer GTN-Konzentration von 3,9 ng/ml 0,00059 ‰

bei einer GTN-Konzentration von 386 ng/ml 0,059 ‰

bei einer GTN-Konzentration von 38590 ng/ml 5,92 ‰

bei einer GTN-Konzentration von 131660 ng/ml 19,89 ‰.

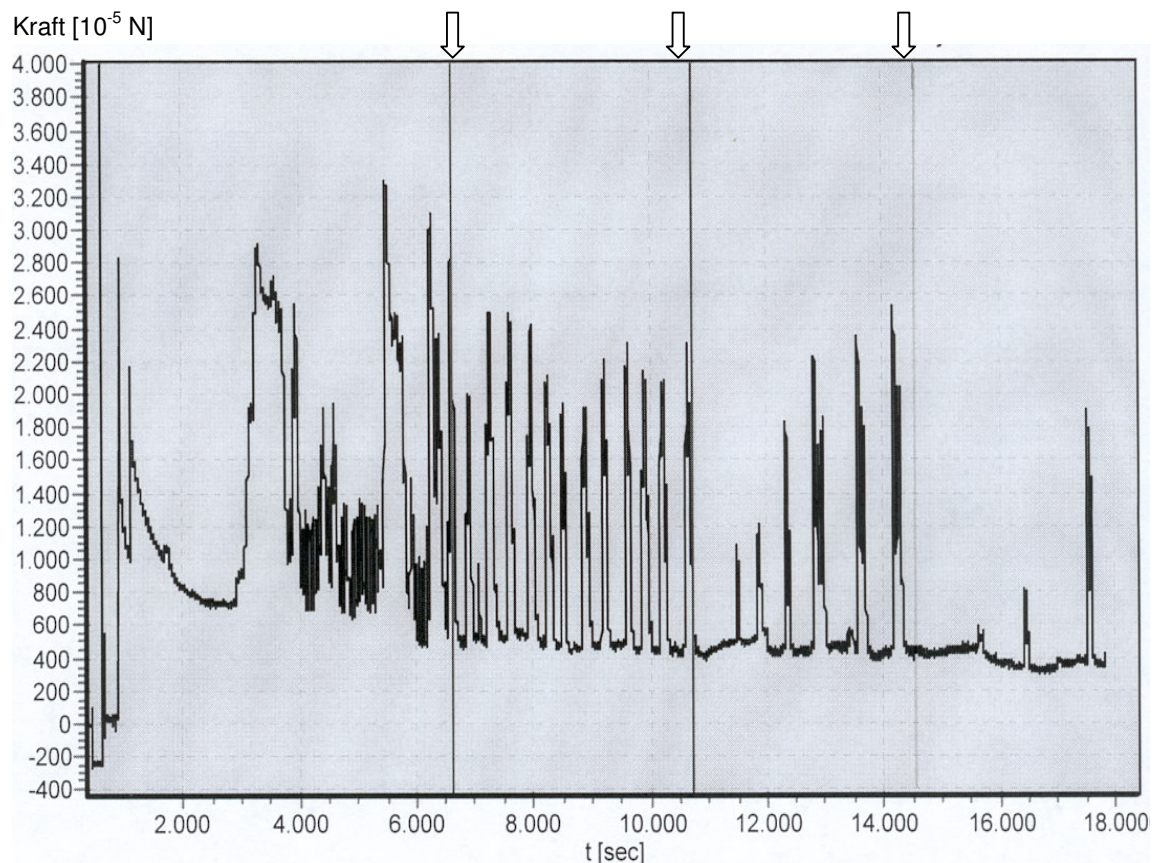
### 3.2.2 Darstellung einzelner Kontraktionskurven bei Applikation von GTN

Abbildung 9 zeigt ein Beispiel für einen Versuch mit GTN in drei ansteigenden Konzentrationen. Hier ist schon in der Übersicht die konzentrationsabhängige Wirksamkeit der Substanz ersichtlich. Nach der ersten Applikation beträgt die Restaktivität hier ca. 52%, die Kontraktionsfrequenz steigt von 2 auf 3 Kontraktionen/ 15 min.

Nach der zweiten GTN-Applikation sinkt die Restaktivität auf 0,7% des Ausgangswertes, die Kontraktionsfrequenz sinkt von 3,5 auf 1 Kontraktion/ 15 min. Direkt an die Applikation schließt sich hier eine Phase von etwa 600 s an, in der keine Spontankontraktionen stattfinden. Noch deutlicher wird dieser Effekt in der dritten Messphase, in der die GTN-Konzentration nochmals gesteigert wurde, so dass für etwa 1000 s keine Spontankontraktionen verzeichnet wurden (die Kontraktionsfrequenz fällt von 2 Kontraktionen/ 15 min auf 0). Die Restaktivität beträgt hier somit 0%.

Eine weitere Besonderheit nach der Applikation von GTN ist die sofortige Wirkung, die auch in der Abbildung nach den letzten beiden GTN-Zugaben deutlich wird. Nach dem Strich, der zeitlich die Medikamentenzugabe markiert, wurden vorerst keine Kontraktionen verzeichnet.





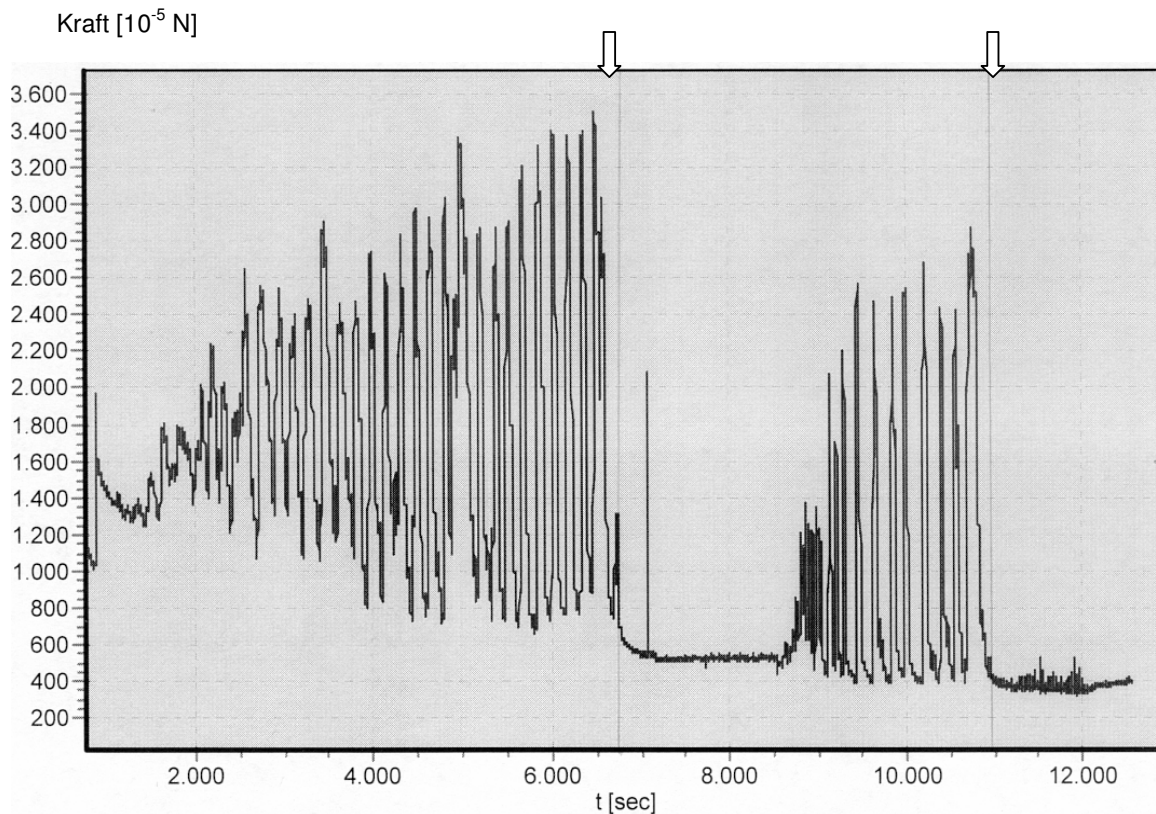
**Abbildung 9: Kurvenverlauf bei Applikation von GTN in ansteigenden Konzentrationen bei 6620, 10715 und 14580 sec.**

Nochmals deutlicher wird der Effekt von GTN in dem nächsten Beispiel (Abbildung 10). Hier wurde GTN in den beiden höchsten Konzentrationen angewandt.

Sowohl in der ersten als auch in der zweiten Messphase findet durch GTN praktisch eine komplette Hemmung der Spontankontraktionen für einen gewissen Zeitraum statt (in der ersten Phase für ca. 2000 s, nach der zweiten GTN-Applikation bis zum Versuchsabbruch), die sofort nach der Substanzzugabe in das Organbad einsetzt.

Ebenso ist hier ein kontinuierliches Absinken der Grundspannung im Versuchsverlauf zu beobachten, wie es häufig in den Versuchen, vor allem bei hohen Konzentrationen von GTN und Nifedipin, der Fall war. In diesem Beispiel sinkt die Grundspannung von 1600 auf  $400 \times 10^{-5}$  N.

Das Phänomen der kompletten Hemmung von Spontankontraktionen war vor allem in den höchsten Konzentrationen häufig, daher ist dieses Beispiel repräsentativ für die Versuche mit GTN. Auch die Wirkdauer in der höchsten GTN-Konzentration bis zum Auftreten neuer Spontankontraktionen entsprach durchschnittlich der hier gemessenen Zeit (2000 s bzw. 33 min.).



**Abbildung 10:** Beispiel für einen typischen Kurvenverlauf bei Applikation von GTN in den höchsten Konzentrationen bei 6725 und 10935 sec.

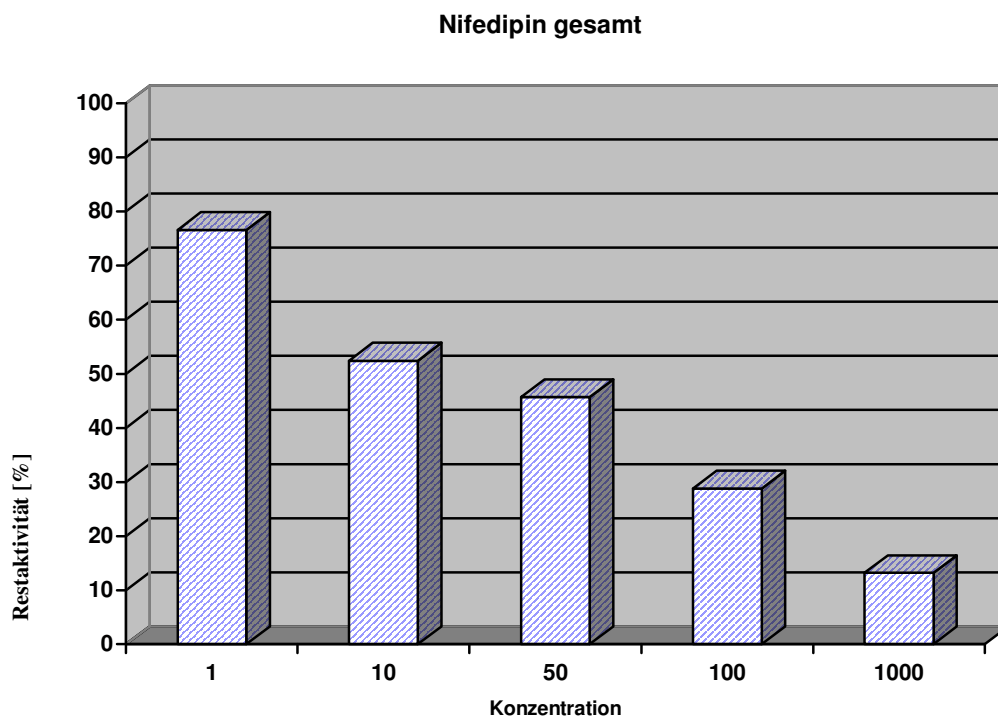
### 3.3 Versuche mit Nifedipin

Durch Nifedipin konnte insgesamt eine starke Relaxationswirkung auf die Spontankontraktionen des nicht-schwangeren Myometriums erzielt werden (siehe Abbildung 11). Bei den Versuchen wurden Nifedipinkonzentrationen zwischen 1 und 1000 ng/ml verwendet. In der niedrigsten Konzentration (1 ng/ml) betrug die mediane Restaktivität 76,6% im Vergleich zu der Ausgangsaktivität, was einer Hemmung von 23,4% entspricht. In der höchsten Konzentration (1000 ng/ml) wurde eine mediane Restaktivität von 13,2% gemessen, dies entspricht einer Hemmung von 86,8% . In den drei dazwischenliegenden Nifedipinkonzentrationen (10; 50 und 100 ng/ml) konnten mit steigender Konzentration abfallende Restaktivitäten erreicht werden. Damit ist der Relaxationseffekt von Nifedipin auf Spontankontraktionen ebenfalls konzentrationsabhängig, zudem ist er genauso wie GTN stärker im Vergleich zur maximal erreichbaren Atosibanwirkung (wobei bei Nifedipin und bei GTN die Variationsbreiten in den verwendeten Konzentrationen viel größer war).

Im Vergleich zu GTN ist der in den Versuchen maximal erreichbare Relaxationseffekt durch Nifedipin geringer als bei GTN, was jedoch auch durch die extrem hohen verwendeten GTN-Konzentrationen erklärt werden kann. GTN hatte in der höchsten Konzentration (131660 ng/ml) eine mediane Hemmwirkung von 97,4%, Nifedipin dagegen 86,8% bei einer Konzentration von 1000 ng/ml.

Geht man von der therapeutischen Plasmakonzentration aus, die bei Nifedipin etwa bei 10 ng/ml liegt, wird in diesem Bereich in den *in vitro*-Versuchen eine Relaxation von ca. 48% erzielt. Mit diesem Wert ist Nifedipin in der Hemmwirkung sowohl Atosiban als auch GTN eindeutig überlegen.

Die durch Nifedipin gemessenen Restaktivitäten werden in Abbildung 11 und Tabelle 8 dargestellt.



**Abbildung 11: Graphische Darstellung der durch Nifedipin erzielten Restaktivitäten in % des Ausgangswertes, Mediane**

<b>Nifedipin-Konzentration [ng/ml]</b>	<b>Restaktivität [%]</b>	<b>Anzahl der Messungen</b>
<b>1</b>	<b>76,6 (62,8- 86,6)</b>	<b>20</b>
<b>10</b>	<b>52,4 (33,5- 66,0)</b>	<b>20</b>
<b>50</b>	<b>45,7 (18,3- 54,7)</b>	<b>19</b>
<b>100</b>	<b>28,8 (16,9- 35,8)</b>	<b>20</b>
<b>1000</b>	<b>13,2 ( 6,1- 19,3)</b>	<b>20</b>

*Tabelle 8: Restaktivitäten nach Zugabe von Nifedipin in % des Ausgangswertes, Mediane (25.-75. Perzentile)*

### 3.3.1 Messungen mit Nifedipin nach wiederholter Substanzapplikation

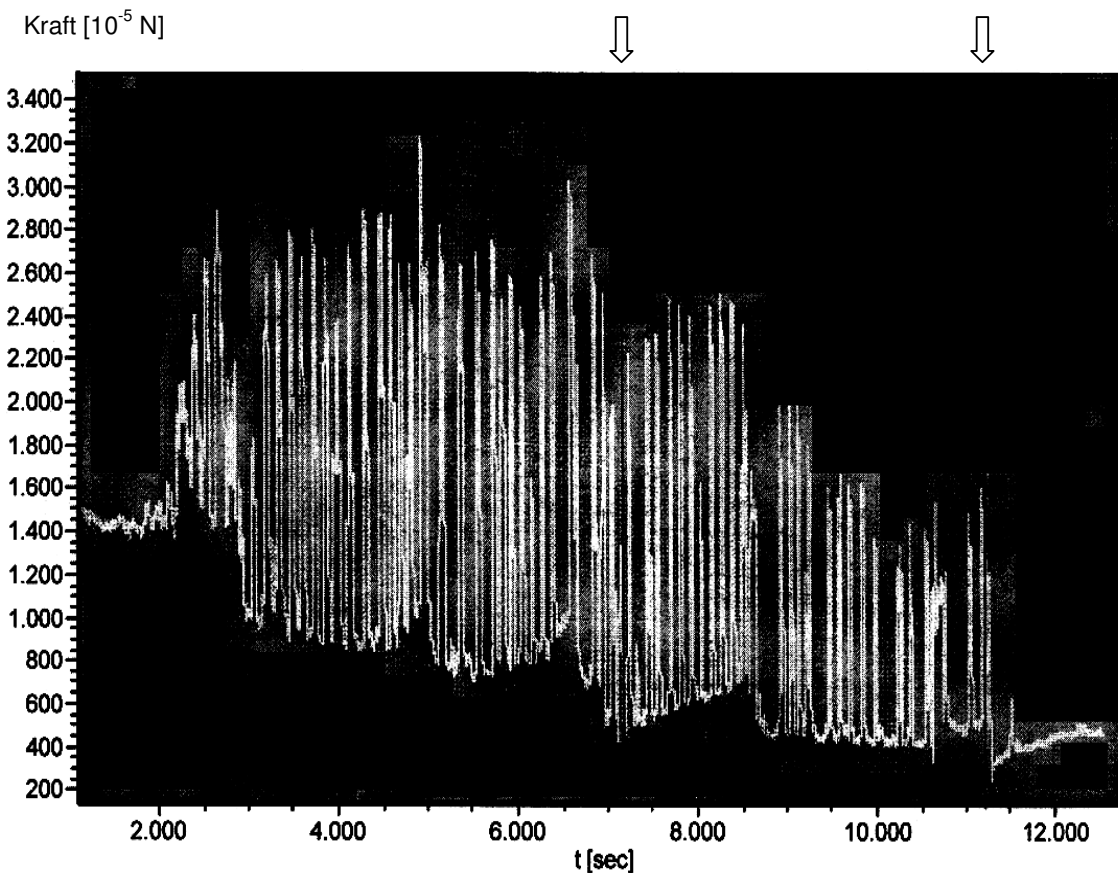
Auch mit Nifedipin konnte in keinem Fall nach der dritten Substanzapplikation eine weitere Messphase durchgeführt werden, da diese Substanz genauso wie GTN einen starken Relaxationseffekt erzielte und somit die spontane Kontraktilität nicht mehr ausreichte für weitere Messungen (siehe Tabelle 9). Daher ist die Anzahl der dritten Substanzapplikationen bzw. Messungen mit 8 ebenfalls gering im Vergleich zu den Atosiban-Messungen (hier konnte insgesamt 15 Mal eine dritte oder vierte Substanzapplikation erfolgen).

<b>Nifedipin-Konzentration [ng/ml]</b>	<b>1. Messung</b>	<b>2. Messung</b>	<b>3. Messung</b>
<b>1</b>	<b>73,2 (14)</b>	<b>79,4 ( 6)</b>	<b>-----</b>
<b>10</b>	<b>52,4 (14)</b>	<b>61,7 ( 5)</b>	<b>32,4 ( 1)</b>
<b>50</b>	<b>34,7 ( 7)</b>	<b>45,7 (11)</b>	<b>49,5 ( 1)</b>
<b>100</b>	<b>30,9 (11)</b>	<b>28,8 ( 8)</b>	<b>19,8 ( 1)</b>
<b>1000</b>	<b>13,7 ( 5)</b>	<b>6,2 ( 9)</b>	<b>14,1 ( 5)</b>

*Tabelle 9: Konzentrationsabhängige Restaktivitäten nach wiederholter Nifedipinzugabe, Mediane (Anzahl der Messungen)*

### 3.3.2 Darstellung einzelner Kontraktionskurven nach Applikation von Nifedipin

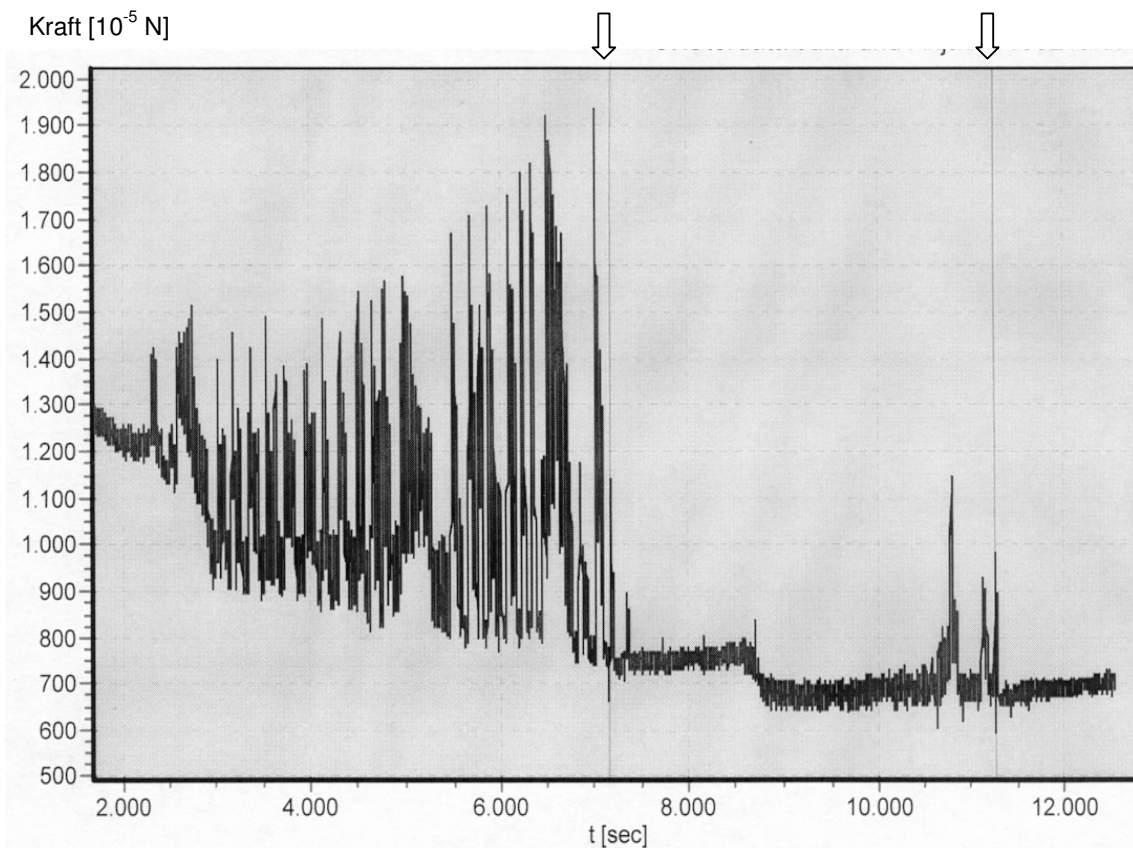
Das erste Messbeispiel (Abbildung 12) zeigt einen Kurvenverlauf nach Applikation von Nifedipin in niedrigen Konzentrationen. Auch hier ist eine konzentrationsabhängige Wirkung der Substanz zu erkennen. Nach der Applikation von Nifedipin in einer Organbadkonzentration von 10 ng/ml (bei  $t = 7145$  s) beträgt die Restaktivität des Myometriums in diesem Beispiel 66,9% (die Kontraktionsfrequenz sank von 6 auf 7 Kontraktionen pro 15 min). In der zweiten Messphase wurde Nifedipin bei  $t = 11.218$  s appliziert, hier betrug die Organbadkonzentration 50 ng/ml. Die Restaktivität war hier 18,3%, wobei sich die Kontraktionsfrequenz von 4,5 auf 1 reduzierte. Bereits in dieser niedrigen Konzentration konnte Nifedipin in diesem Beispiel die Spontankontraktionen fast vollständig hemmen. Eine Verminderung der Grundspannung der Myometriumstreifen war in den Versuchsverläufen mit Nifedipin ebenso zu beobachten.



*Abbildung 12: Typischer Kurvenverlauf bei Applikation von Nifedipin in einer Organbadkonzentration von 10 ng/ml bei  $t = 7145$  s und 50 ng/ml bei  $t = 11218$  s*

Abbildung 13 zeigt einen Kurvenverlauf nach Applikation von Nifedipin in höheren Konzentrationen (100 ng/ml und 1000 ng/ml). Hier war wiederum eine vollständige Hemmung der Spontankontraktionen zu erreichen, wobei die Zeit bis zum Auftreten erneuter Kontraktionen nach der Substanzzugabe im Vergleich zu den Versuchen mit GTN länger war. In der ersten Messphase (Applikation bei  $t=7150$ ) hielt die kontraktionslose Phase für ca. 3500 s an, in der zweiten Phase (Applikation bei  $t=11.265$ ) bis zum Versuchsabbruch. Es fällt wiederum eine Abnahme der Grundspannung bzw. der Baseline von 900 auf  $700 \times 10^{-5}$  N auf.

Charakteristisch war bei den Messungen mit Nifedipin ein verzögerter Wirkungseintritt im Vergleich zu GTN, welches eine sofortige Wirkung zeigte. Obwohl auch Nifedipin in der Lage war, Spontankontraktionen komplett zu hemmen, waren nach Substanzzugabe häufig noch einige kleinere Kontraktionen zu verzeichnen, die jedoch langsam „abebbten“. Diese Beobachtung geht aus den Abbildungen 12 und 13 nicht ausreichend hervor.



**Abbildung 13: Kurvenverlauf bei Applikation von Nifedipin in einer Organbadkonzentration von 100 ng/ml bei  $t=7150$  s und 1000 ng/ml bei  $t=11.265$  s**

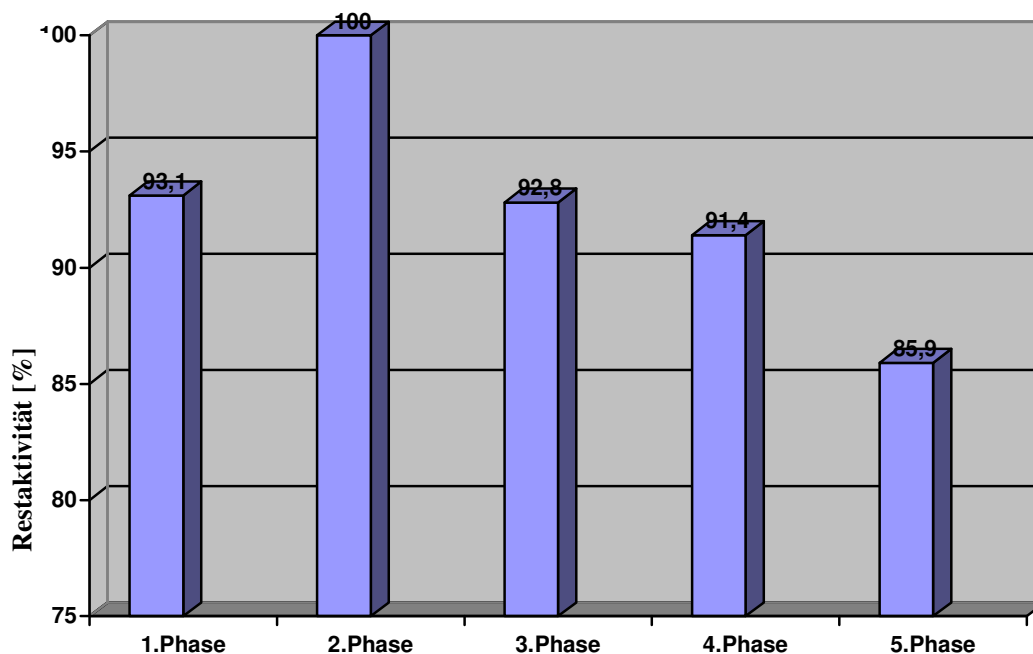
Abschließend bleibt zu bemerken, dass die verwendete Nifedipinlösung ebenfalls Ethanol enthielt, jedoch mit 18 Vol.-% Alkohol in geringerer Konzentration als bei GTN. Rechnerisch sind in den Organbädern Alkoholkonzentrationen zwischen 0,0018‰ und 1,8‰ entstanden.

### 3.4 Kontrollmessungen

Insgesamt wurden 40 Messungen an 10 Myometriumstreifen von 5 Patientinnen ohne Substanzapplikation durchgeführt. Dadurch sollte vor allem beurteilt werden, inwieweit die Kontraktionskraft des Gewebes im Laufe der Versuchszeit stabil bleibt.

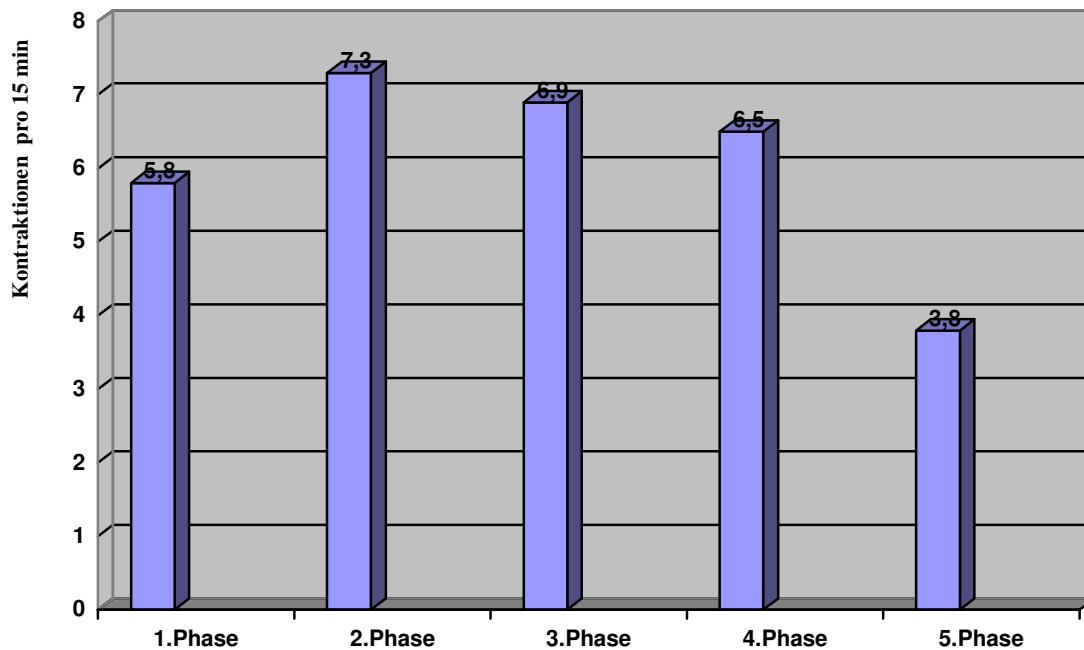
Zu diesem Zweck wurden an jedem Streifen 5 jeweils 15-minütige Messphasen aufgezeichnet, jeweils im Abstand von 30 Minuten. Als erste Messphase dienten die ersten 900 s (15 min) der Spontankontraktionen, als zweite Phase 30 min nach Beginn der spontanen Kontraktionen. Diese zweite Phase wurde an jedem Myometriumstreifen als Vergleichswert für die anderen Messphasen herangezogen, d.h. mit 100% festgesetzt, da zu diesem Zeitpunkt regelmäßig ein Maximum an Kontraktilität entwickelt wurde. Die weiteren Messphasen waren 60 min, 90 min und 120 min nach Beginn der Spontankontraktionen.

Wird die zweite Messphase als Vergleichswert herangezogen, so lag die durchschnittliche Kontraktilität bei den Kontrollversuchen in der ersten Messphase bei 93,1%, in der dritten Phase bei 92,8%, in der vierten Phase bei 91,4% und in der letzten Messphase schließlich bei 85,9% (siehe Abbildung 14). Diese Werte zeigen, dass ohne Substanzapplikation im Versuchsablauf geringe Schwankungen bezüglich der Kontraktilität der Myometriumstreifen existieren.



**Abbildung 14:** Spontanes Kontraktionsverhalten der Myometriumstreifen im Versuchsverlauf ohne Substanzapplikation (Kontraktilität in Phase II entspricht 100%).

In Abbildung 15 wird gesondert die durchschnittliche Frequenz der Spontankontraktionen pro 15 min ohne Substanzzugabe im Versuchsverlauf dargestellt. Sie liegt zwischen durchschnittlich 3,8 und 7,3 Kontraktionen pro 15 min.. Hier wird im Wesentlichen die entwickelte Gesamtkontraktilität (siehe Abbildung 14) widerspiegelt, das heißt, auch die Kontraktionsfrequenz der Myometriumstreifen war in Phase II mit durchschnittlich 7,3 Kontraktionen pro 15 min. am höchsten. Das Minimum der Kontraktionsfrequenz wird gegen Versuchsende (Phase V) mit 3,8 Kontraktionen pro 15 min. erreicht.



**Abbildung 15: Spontanes Kontraktionsverhalten im Versuchsverlauf ohne Substanzapplikation, Frequenz der Kontraktionen**



### 3.4.1 Darstellung einer typischen Kontraktionskurve ohne Substanzapplikation

Abbildung 16 zeigt einen typischen Kurvenverlauf der Kontrollmessungen bei spontanen Kontraktionen ohne Substanzzugabe. Zunächst liegt die Spannung des Streifens bei etwa  $1700 \times 10^{-5}$  N (bei  $t=1250$  s; der Versuchsbeginn  $t=0$  ist in der Abbildung nicht dargestellt), wobei innerhalb der ersten 2500 s eine geringgradige Relaxation auf  $1500 \times 10^{-5}$  N stattfindet. Diese spezielle Eigenschaft der glatten Muskulatur wird, wie bereits in der Einleitung erwähnt, als plastisch bzw. viskoelastisch bezeichnet.

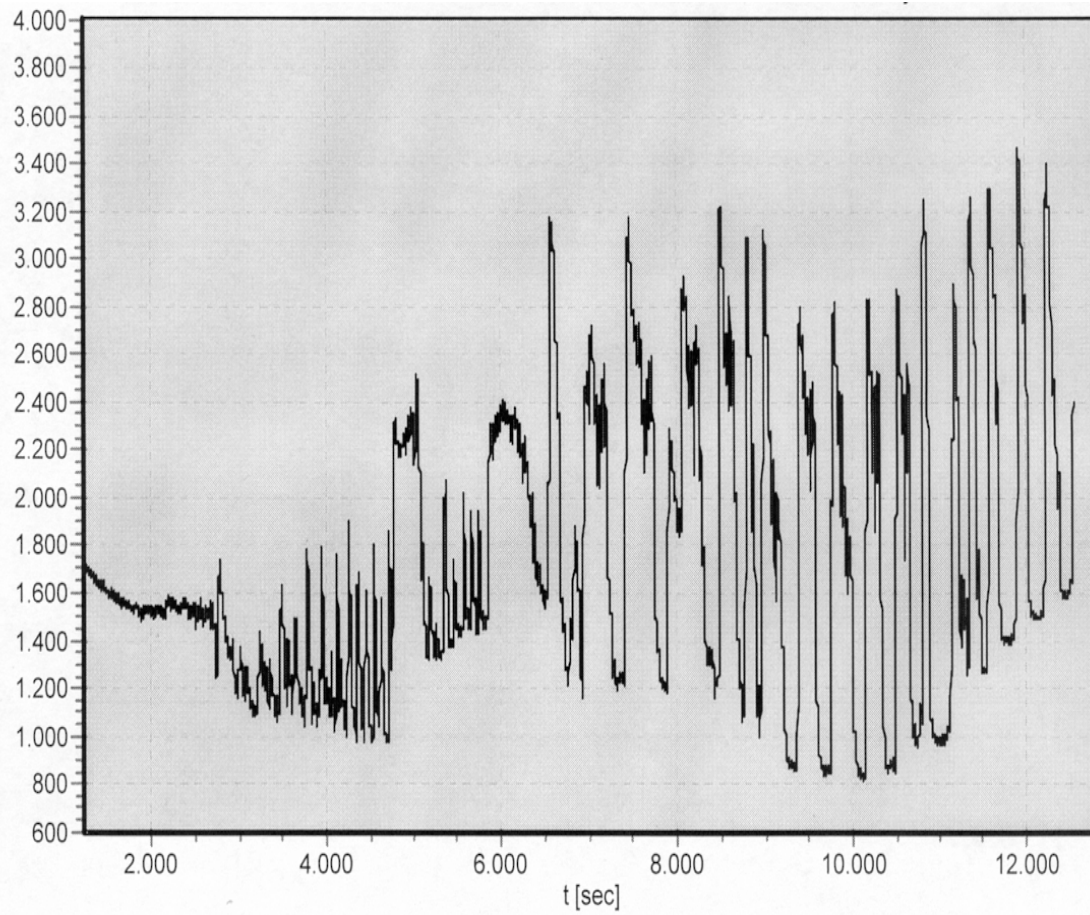
Nach etwa 2750 s kam es in diesem Beispiel zur spontanen Eigenaktivität des Myometriums, die in den ersten 2500 s nach Kontraktionsbeginn eine Kontraktionsfrequenz von 7 pro 15 min und eine Kraft von durchschnittlich etwa  $800 \times 10^{-5}$  N aufwies (48% der Kontraktilität von Phase II).

In der zweiten Messphase (30 min nach Beginn der Spontankontraktionen) änderte sich an der Frequenz wenig (6 Kontraktionen/ 15 min), die durchschnittliche Kraft verdoppelte sich jedoch auf etwa  $1700 \times 10^{-5}$  N. Diese Phase gilt als Vergleichswert für die anderen Messphasen an diesem Myometriumstreifen und wird daher mit 100% festgesetzt.

In der dritten Messphase (60 min nach Beginn der Spontankontraktionen) ist in diesem Beispiel zu beobachten, dass die Frequenz der Kontraktionen deutlich fällt (auf 2 Kontraktionen/ 15 min), wobei die Kraft weiter deutlich steigt (172% im Vergleich zur zweiten Phase). In der vierten Messphase (90 min nach Beginn der Spontankontraktionen) ändert sich in diesem Beispiel nicht viel im Vergleich zur dritten Phase, die Kontraktionsfrequenz liegt hier bei 2,5 Kontraktionen/ 15 min und die Kontraktilität beträgt 174% des Wertes aus Phase II. In der fünften Messphase (120 min nach Beginn von Spontankontraktionen) nimmt die Frequenz erneut leicht zu (3,5 Kontraktionen/ 15 min), die Kontraktilität nimmt leicht ab (161% des Wertes aus Phase II).

Während des Versuchsablaufes schwankt die Baseline, d.h. die Grundspannung der Myometriumstreifen, in diesem Messbeispiel in einem Bereich von etwa  $400 \times 10^{-5}$  N, wobei bei Versuchsbeginn eine konstante Vordehnung auf  $2000 \times 10^{-5}$  N eingestellt wurde (wie im Methodenteil erwähnt). Während der meisten Versuche mit Applikation von GTN und Nifedipin zeigten die Streifen entgegengesetzt zu diesem Beispiel ohne Substanzzugabe jedoch eher die Tendenz, in ihrer Grundspannung abzusinken und bei Versuchsende einen Tiefpunkt zu erreichen. Dieses Phänomen war vor allem bei hohen Konzentrationen zu beobachten.

Kraft [ $10^{-5}$  N]



**Abbildung 16:** *Typischer Kurvenverlauf der Spontankontraktionen ohne Substanzapplikation*

### 3.5 Übersicht der Ergebnisse

In Abbildung 17 sind die Ergebnisse zu den drei Substanzen und die Kontrollversuche ohne Substanzapplikation in einer Übersicht graphisch dargestellt. Konzentration 1 ist dabei die jeweils niedrigste angewendete Konzentration, Konzentration 5 die höchste (nur Nifedipin wurde in 5 verschiedenen Konzentrationen getestet). In den Kontrollversuchen waren die Messphasen zeitlich vorgegeben: die Phasen 1-5 werden in der Graphik den Konzentrationen 1-5 gegenübergestellt. Als erste Messphase dienten die ersten 900 s (15 min) der Spontankontraktionen, als zweite Phase 30 min nach Beginn der spontanen Kontraktionen. Diese zweite Phase wurde an jedem Myometriumstreifen als Vergleichswert für die anderen Messphasen herangezogen, d.h. mit 100% festgesetzt, da zu diesem Zeitpunkt regelmäßig ein Maximum an Kontraktilität entwickelt wurde. Die weiteren Messphasen der Kontrollversuche waren 60 min, 90 min und 120 min nach Beginn der Spontankontraktionen. Dargestellt sind wie in den anderen Abbildungen die jeweiligen Restaktivitäten in Prozent.

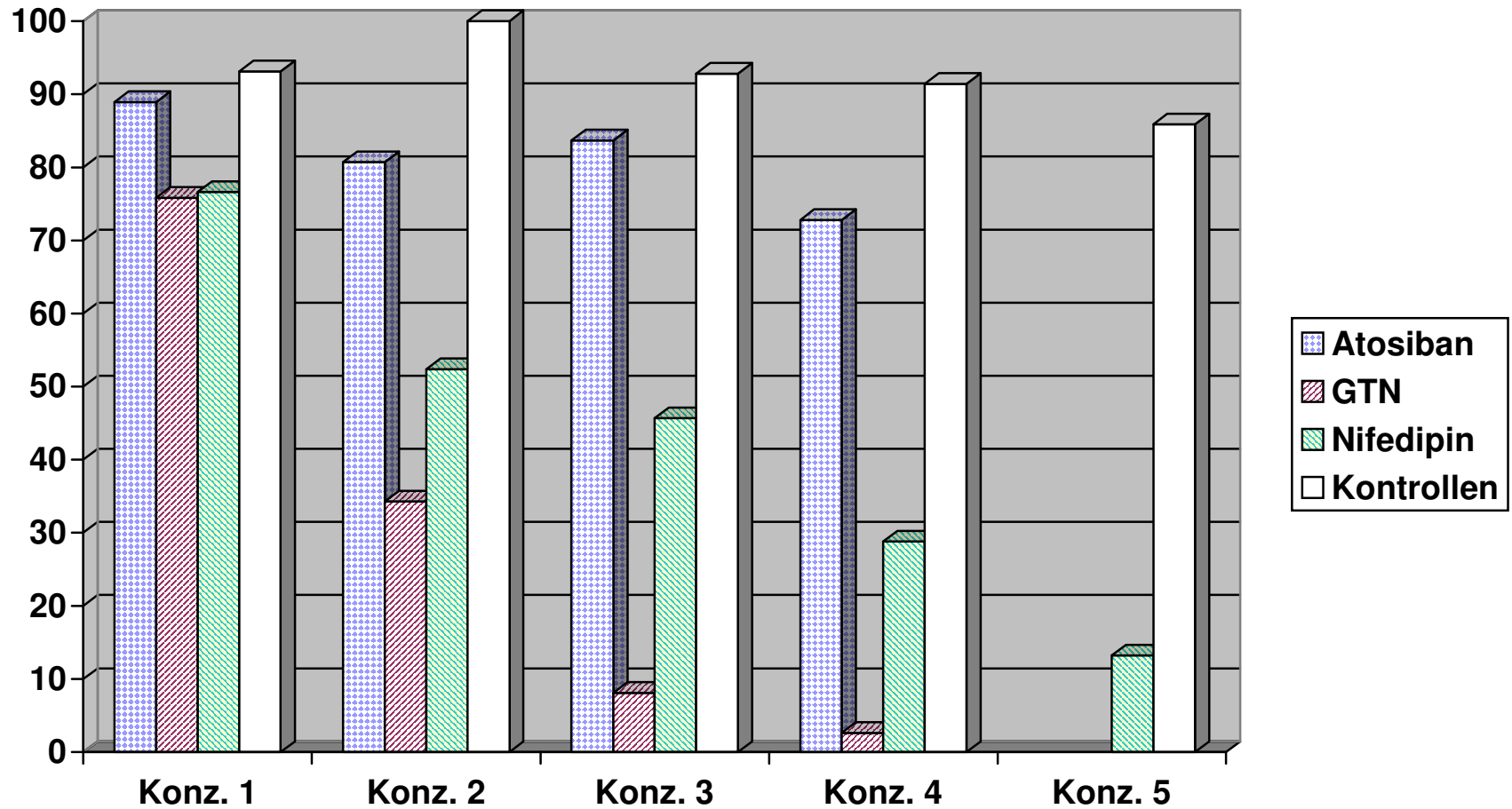
In der Übersicht wird zunächst deutlich, dass mit zunehmender Medikamentenkonzentration die Restaktivität der Myometriumstreifen abnimmt. Auch in den Kontrollversuchen wird eine geringgradige Abnahme der Restaktivität im Versuchsverlauf deutlich. Die Kontrollversuche ohne Substanzapplikation zeigen eine Tendenz der Myometriumstreifen zum Kontraktilitätsverlust, wobei vor allem die Frequenz der Spontankontraktionen um etwa 50% abnimmt.

Atosiban, Glyceroltrinitrat und Nifedipin wirken dosisabhängig relaxierend auf die Spontankontraktionen von Myometrium nicht-schwangerer, prämenopausaler Frauen *in vitro*.

Aus der Übersicht ist außerdem ersichtlich, dass GTN in sehr hohen Konzentrationen die wirksamste Substanz zur Hemmung der Spontankontraktionen *in vitro* ist. Eine für Nitrate typische Toleranzentwicklung bei wiederholter Applikation konnte in den vorliegenden Studien nicht beobachtet werden. In dem Bereich der therapeutischen Plasmakonzentration ist Nifedipin die wirksamste Substanz zur Hemmung der Spontankontraktionen *in vitro*.

Atosiban ist in den Versuchen die Substanz, die die geringste Relaxationswirkung zeigte. Die nach Applikation von Atosiban gemessenen medianen Restaktivitäten (88,9-72,8%) liegen prozentual eher im Bereich des natürlichen Kontraktilitätsverlustes der Myometriumstreifen nach zwei Stunden (85,9% in den Kontrollversuchen).

In den *in vitro*-Versuchen sind höhere Medikamentenkonzentrationen als *in vivo* nötig, um eine Relaxationswirkung zu erreichen.



*Abbildung 17: Übersicht der Ergebnisse (mediane Restaktivitäten in %, Konzentrationen 1-5: ansteigende Konz. der versch. Substanzen)  
 Kontrollen: keine Substanzzugabe, Konz. 1-5 entsprechen der Aktivität bei Beginn und 30, 60, 90 und 120 min. nach dem Beginn von Spontankontraktionen im Vergleich zu Phase 2, diese wurde festgelegt mit 100%*